

Studies on absorption of insulin in human nasal mucosa
and oral cavity mucosa

Tomoko YOKOSUGA, Yasue OHMORI, Yukimasa HIRATA and
Shinichiro HIRAI

Insulin was administered through nasal mucosa and oral cavity mucosa of healthy subjects. Absorption of insulin was detected by variation of blood glucose level, immunoreactive insulin (IRI) and C-peptide immunoreactive (CPR). Insulin solution used contained porcine crystalline insuline 10, 30 or 50 units/0.1 ml. Medium was a solution (pH 7.6) containing physiological saline (pH 3) and 1% sodium glycocholate or surface active agents. Absorption through nasal mucosa was tested after spraying the above insulin solution (0.1 ml) into nasal cavity of the healthy subjects. Or absorption through oral mucosa was conducted by dropping hypoglossally. Blood sugar level, Serum IRI and CPR were assayed by collecting blood samples before or after administration of the solution.

Transnasal administration using solution of sodium glycocholate resulted superior in insulin absorption and mucosal irritation. Administration of insulin solution of this type showed significant

increase in serum IRI after 5 minutes. Later on the increase in blood IRI, blood sugar and CRP levels were decreased. Administration of insulin solution with pH 3 acidic solution resulted no absorption of insulin. Absorption of insulin through oral mucosa was not observed when sodium glycocholate solution was applied.

原 著

ヒト鼻粘膜および口腔粘膜における インスリンの吸収に関する研究

横須賀智子* 大森 安恵* 平田 幸正*
平井真一郎**

要約：健常者に対しインスリンの鼻粘膜と口腔粘膜投与を試み、これら粘膜からのインスリン吸収を、血糖、immunoreactive insulin (IRI), C-peptide immunoreactivity (CPR) の変動によって検討した。使用したインスリン溶液はブタ結晶インスリンを 0.1 ml 中 10, 30 あるいは 50 単位含むものであり、溶媒としては pH 3 の生理的食塩水、1% グリココール酸ナトリウムを含む pH 7.6 の溶液あるいはその他の各種界面活性剤を含む溶液を用いた。鼻粘膜よりの吸収をみる目的では上記インスリン溶液の 0.1 ml をスプレーで健常者の鼻孔より注入した。口腔粘膜からの吸収をみる目的では上記溶液を健常者の舌下に滴下した。これら溶液投与前後において肘静脈より採血し、血糖、血清 IRI, CPR を測定した。

溶媒としてグリココール酸ナトリウムを用い鼻粘膜から投与した場合がインスリンの吸収および粘膜刺激の面から優れており、このインスリン溶液を鼻粘膜に投与した際、5分後に血中 IRI の明らかな上昇がみられた。血中 IRI の上昇に遅れて血糖の低下、CPR の低下が認められた。

これに対し pH 3 の酸性溶液の使用では鼻粘膜投与でもインスリンの吸収は認められなかった。なお口腔粘膜からは溶媒としてグリココール酸ナトリウムを用いた場合もインスリンの吸収は認められなかった。

〔糖尿病 20(2) : 146~152, 1977〕

はじめに

インスリンの注射以外の投与法は種々試みられているが、未だ臨床的に実用化されたものはない。例えばインスリンの経口投与による腸管吸収^{1)~8)}、結腸内投与^{9)~10)}、あるいは口腔内投与による口腔粘膜よりの吸収^{11)~18)}、エアゾールによる気管粘膜よりの吸収等¹⁷⁾の報告をみるがいずれも実用には至っていない。そこで私共は各種界面活性剤を用いてインスリンのヒト鼻粘膜からの吸収を、血糖、IRI, CPR の変動より検索した。なお鼻粘膜と平行して口腔内投与を比較検討した。また溶媒としてグリココール酸ナトリウム、ウルソデオキシコール酸ナトリウム、塩化リゾチームその他の界面活性剤を含む溶液を使用した。また界面活性剤を含まない pH 3.0 の 0.9% 食塩水を用いた場合についても検討を行った。その結果ある種の活性剤の存在のもとではインスリンは鼻粘膜から比較的高率に吸収されることを認めたので報告する。

方 法

糖尿病遺伝歴および肥満のない健常者男性10名女性8名計18名（年齢は25~45歳、平均30歳）について下記の検査を施行した。

これら健常者を早朝空腹時に5分間安静にさせた後、下記の各種溶液を鼻粘膜あるいは口腔粘膜に投与した。鼻粘膜にはスプレーにより散布、口腔内には舌下に投与した。採血はインスリン投与前、投与後 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120 分において肘静脈より施行した。一部血液より血糖を測定し残りの血液から速やかに血清を分離し、-20°C に凍結保存した。血糖はオートアナライザーを用いたグルコースオキシダーゼ法、IRI は 2 抗体法、CPR は第一アイソトープ社の C ペプチド測定キットを用いた。なお本研究で粘膜に投与したインスリンはブタ結晶インスリン（清水製薬）であり、下記各種溶液にそれぞれ 10, 30, 50 単位が各々含まれるように溶解した。

1) pH 3 の 0.9% 食塩水（塩酸にて調整）

* 東京女子医科大学糖尿病センター（〒162 新宿区市谷河田町 10）

** 武田製薬研究所（〒532 大阪市淀川区十三本町 2 丁目17番85号）

受付：昭和51年11月17日

ヒト鼻粘膜および口腔粘膜におけるインスリンの吸収に関する研究

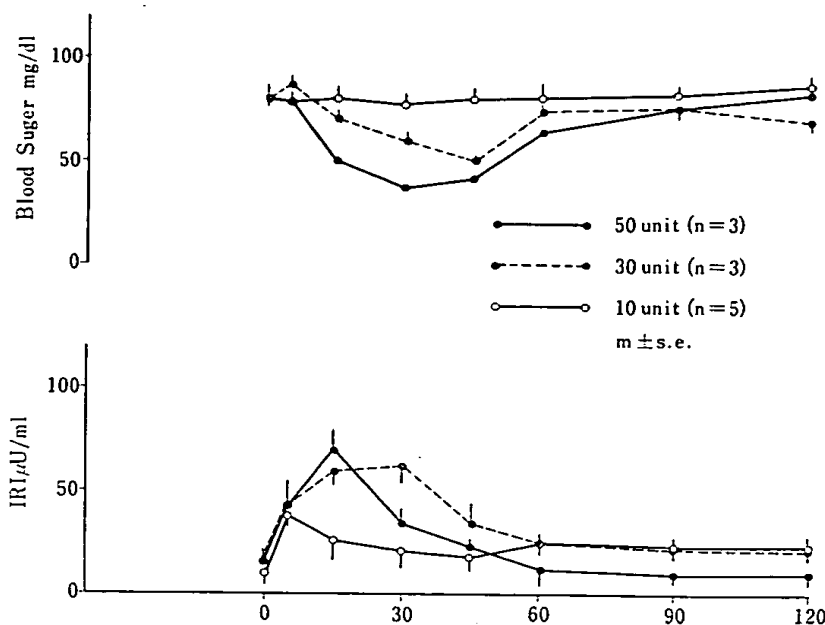


Fig. 1 Nasal administration of insulin in 1% sodium glycocholate solution (pH 7.6)

この 0.1 ml 中インスリン30単位含むものを3名に鼻粘膜投与した。

2) 1%グリココール酸ナトリウム溶液 (pH 7.6)

この 0.1 ml 中にインスリン10単位含むものを鼻粘膜投与したもの5名, 30単位3名, 50単位3名であった。口腔内には30単位を2名に投与した。

3) 1%ウルソデオキシコール酸ナトリウム (東京田辺)

この 0.1 ml と高単位レンテインスリン (100 U/ml, Lilly 社) 10単位を混合後, 1名に鼻粘膜投与した。

4) その他の各種界面活性剤

2%塩化リゾチーム (エーザイ), 2%ポリオキシエチレン水素添加ヒマシ油誘導体 HCO-60 (エーザイ), 2%ゼラチン部分水解物 Byco-E (エーザイ) のそれぞれ 0.1 ml とレギュラーインスリン (清水製薬) 10単位 (0.25 ml) とを混合, それぞれ2名, 1名, 1名の鼻粘膜に投与した。

なお, 対照実験として 0.1単位/kg のレギュラーインスリンを健常者各1名ずつに皮下注及び静注し, 1%グリココール酸ナトリウムに溶解した 0.1単位/kg のインスリンの鼻粘膜投与1例との比較を行った。

結果

1) pH 3 の 0.9% 食塩水を溶媒とし

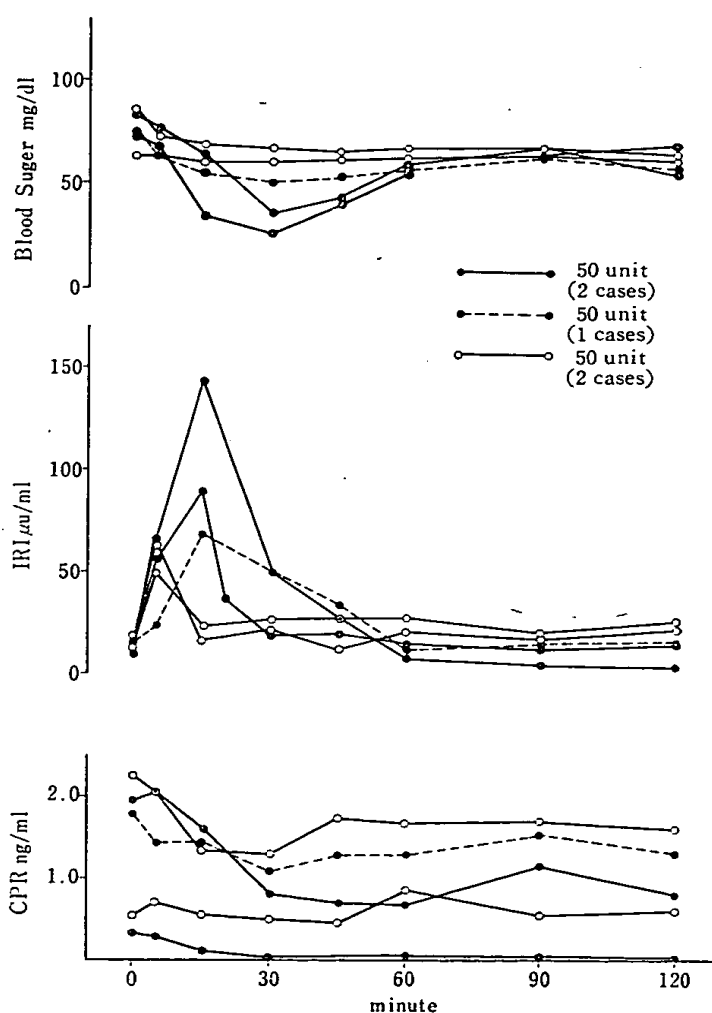


Fig. 2 Nasal administration of insulin in 1% sodium glycocholate solution (pH 7.6) in 5 cases.

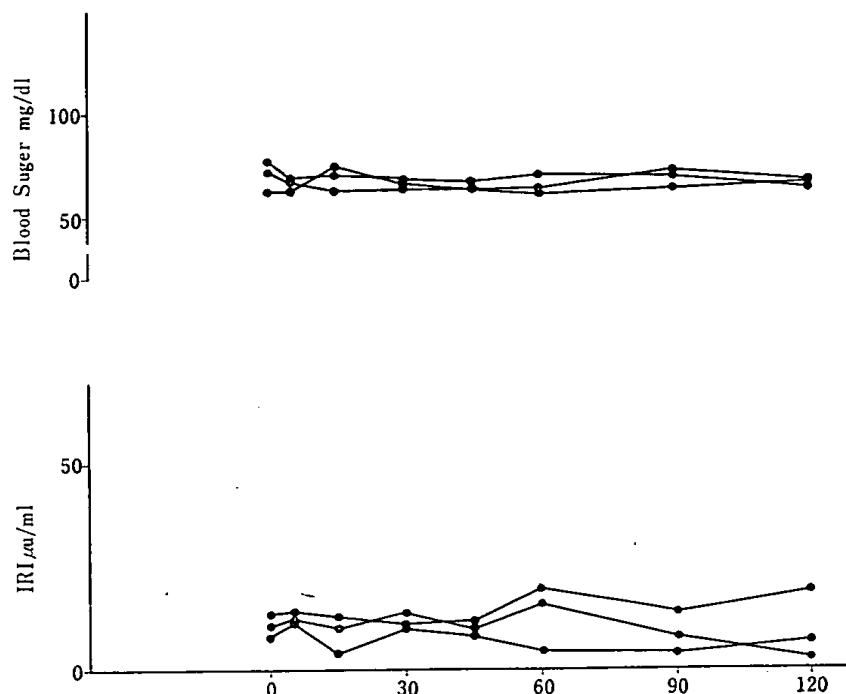


Fig. 3 Sublingual administration of insulin (30 unit) in 1% glycocholate solution (pH 7.6) in 3 cases.

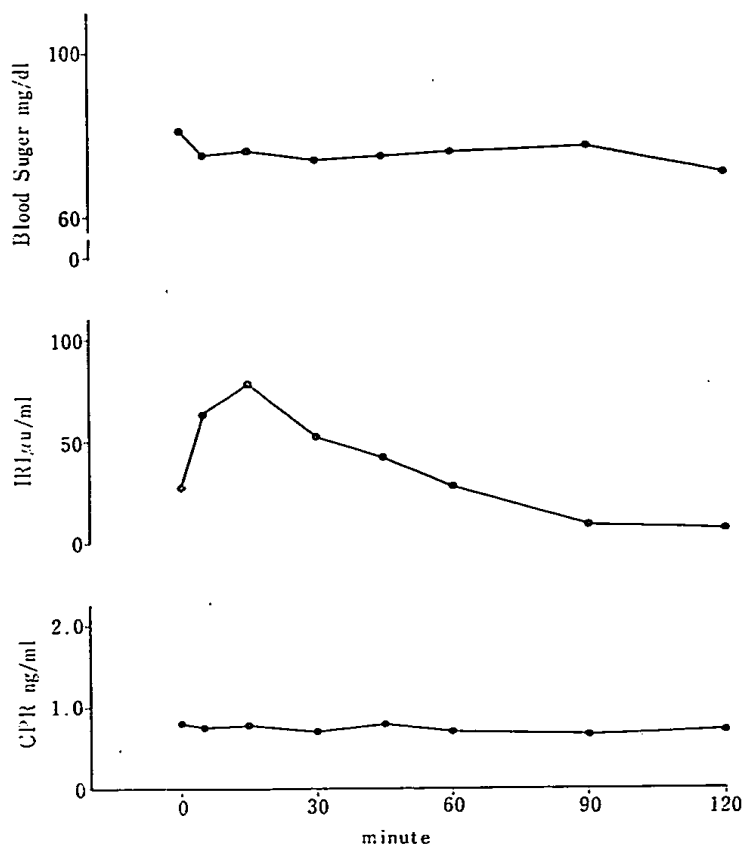


Fig. 4 Nasal administration of insulin in 1% Na ursodeoxycholate in case S.M.

ンスリン30単位を鼻粘膜に投与した2例においては血中 IRI の上昇, 血糖の下降共に認められなかった。

2) 1%グリコール酸ナトリウム溶液 (pH 7.6) を鼻粘膜に投与した11例における結果を Fig. 1 に示す。鼻粘膜投与5分にすでに血中 IRI の有意の上昇がみられ、頂値は10単位、30単位、50単位と高く dose-response の傾向がみられている。血中 IRI の上昇に遅れて血糖の下降が認められ、同様に dose-response の傾向が認められている。低血糖症状は50単位投与例3名のうち2名に倦怠感、心悸亢進症状が認められた。11名中3名に鼻汁、分泌亢進、咽頭痛などの刺激症状がみられた。

以上の11例中血中 CPR を測定した5例 (50単位2例、30単位1例、10単位2例) における成績を Fig. 2 に示す。血中 IRI の上昇、血糖下降に引き続き血中 CPR の低下が15分後より認められた。

1%グリコール酸ナトリウムを加えたインスリン30単位 0.1 ml の舌下投与3例における成績を Fig. 3 に示す。血中 IRI の上昇、血糖の下降共に認められなかった。

3) 1%ウルソデオキシコール酸ナトリ

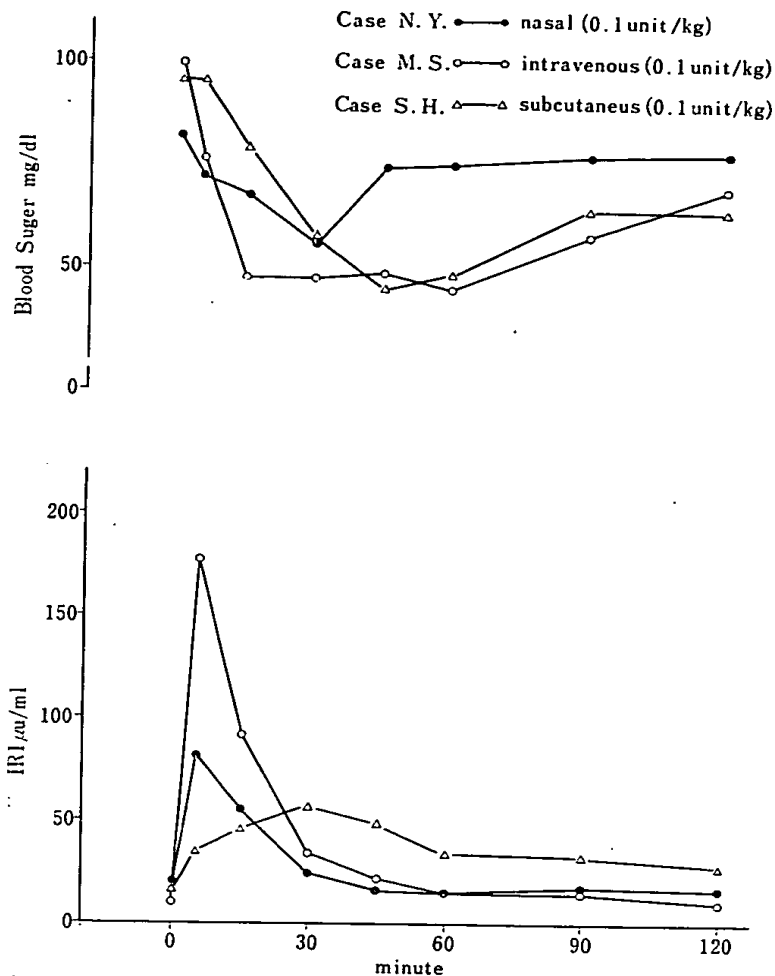


Fig. 5 Nasal intravenous and subcutaneous administrations of regular insulin in cases.

ウム溶液とインスリン10単位混合液の鼻粘膜投与の結果を Fig. 4 に示す。血中 IRI の上昇にもかかわらず、血糖の低下はみられていない。また、血中 CPR の抑制はみられなかった。なお本例では鼻粘膜の刺激が強く鼻閉、咽頭刺激等の症状が発現した。

4) HCO-60, Byco-E, 塩化リゾチームの各々2%溶液 0.1 ml とレギュラーインスリンは10単位の混合液を鼻粘膜投与した際には、血中 IRI の上昇、血糖の下降共に認められなかった。

5) 0.1単位/kg のインスリン（グリココール酸ナトリウム溶液）の鼻粘膜投与とインスリンの静注、皮下注との比較を Fig. 5 に示す。血中 IRI の上昇は鼻粘膜投与5分後にみられ、鼻粘膜投与では皮下注よりも IRI の頂値に達する時間が速かった。

考 案

近時下垂体ホルモンの鼻粘膜投与による臨床応用の

報告をみる。特に合成 LH-RH の鼻粘膜投与を検査および治療に用いる方法^{19)~23)}が注目されている。その他 ACTH²⁴⁾ パンプレッシン²⁵⁾、オキシトシン^{26)~29)}、も鼻粘膜より吸収されるといわれその実用化の検討がなされた。もしインスリンも上記ホルモンと同様に鼻粘膜より吸収されるならばその治療分野での応用に大きい進歩をもたらすと考えられる。特に頻回に注射を必要とする不安定型糖尿病に対しては、注射による疼痛をさけることが出来るので、頻回投与が可能となり良好なコントロールの獲得に役立つと考えられる。

インスリンの注射以外の投与方法として、1923 年に Winter ら¹⁾が腸管からの吸収を試み、近年では Pater ら²⁾のリボソームに包含されたインスリンの腸管からの吸収や七里ら³⁾の W/O/W insulin micelles (ミセルインスリン)を用いた腸管投与方法⁴⁾、その他多数^{2)~7)}の報告がなされている。口腔内よりの吸収に関しては1924年に Mendel ら¹¹⁾の報告に初まり1972年には Earle ら¹⁶⁾の舌下インスリン 10 単位投与により引き起こされた報告に至るまでその他多数の報告^{12)~15)}が見られる。さらに気管支内投与¹⁷⁾¹⁸⁾、結腸

内投与⁹⁾¹⁰⁾点眼投与³⁰⁾あるいはインスリンポリアクリアマイドのアロキサン糖尿病ラットへの皮下移植による血糖下降²⁹⁾などの報告も行われている。しかし、インスリンの鼻粘膜からの吸収について検討を行った報告はまだないようである。

なお前述の下垂体ホルモンの鼻粘膜投与では下垂体ホルモンは分子量 4,000 までのものであり、鼻粘膜より比較的容易に吸収されると報告されている。

一方、インスリンは分子量 6,000 であるがポリマーを作ることも多く吸収は下垂体ホルモンに比べやや悪いのではないかと想像される。インスリンの鼻粘膜吸収に関する動物実験として平井ら³¹⁾は各種 pH (pH 3~7.4) の食塩水 (0.9%) に結晶ブタインスリンを溶かし鼻粘膜投与を試みた。その結果インスリンは pH 3 の溶液にとかした場合は、鼻粘膜よりすみやかに吸収され著明な IRI の上昇と血糖の低下が認められた。すなわち鼻粘膜のインスリン投与の場合、

pH に左右され、pH 6~7 ではほとんど無効であるが pH 3 の血糖降下率は大きく、静脈内投与の 2.5~3 倍の投与量で同一の降下率を示した。また界面活性剤グリコール酸ナトリウムの添加により中性溶液でも吸収は顕著に増大し pH 3 溶液と同程度の血糖降下率を示した。一方ラットでは pH 3 溶液では鼻粘膜吸収率が低く、グリコール酸ナトリウムを加えた場合に吸収が増強されイヌと同程度の吸収を示した。ラットにおいては、インスリン鼻粘膜投与後 1 カ月の鼻粘膜では組織学的変化は認められなかった。

ヒト鼻粘膜においてはブタ結晶インスリンを pH 3 の食塩水 (0.9%) に溶解した際にはインスリン吸収は行われず、1%グリコール酸ナトリウムを界面活性剤として使用した場合にインスリンの速やかな吸収がみとめられた。グリコール酸ナトリウムは生理的に胆汁中に存在し強い表面張力低下作用を持つ物質である。インスリンが鼻粘膜より吸収されたインスリンはその投与量に応じて速やかに血糖を下降せしめ引きつづき CPR の抑制を示した。これは血糖降下により内因性のインスリンの分泌の抑制がおこったことを示すものと言える。1%ウルソデオキシコール酸ナトリウムを活性剤として使用した際に、血中 IRI の上昇にもかかわらず血糖の下降の認められなかったのは、鼻粘膜投与の際の刺激が強くアドレナレンが分泌されたと推定された。

口腔粘膜に 1%グリコール酸ナトリウムを添加しインスリン 50 単位を投与した例においては吸収は認められなかった。インスリンの溶液に塩化リゾチーム、HCO-60, Byco-E などの高分子界面活性剤を加えた場合は鼻粘膜でもすでに吸収は認められなかった。吸収量は静注例に比し約 30% の吸収がみられると推定される。

鼻粘膜投与の臨床応用に関しては現在の時点ではなお検討の余地が多く、例えば長期的な頻回投与に対する鼻粘膜の障害の検討が必要である。また投与量と血糖下降との量的な相関を一定にするために投与法の改良を要する。さらに、界面活性剤を使用すればインスリンとともに他の未知の多数の物質を同時に吸収する可能性のあることなども大きい問題点である。しかし、インスリンの鼻粘膜投与は注射によらないインスリンの投与法としては従来の他のいずれの方法にもみられない効果を有するものであるといえるので今後とも改良に向って研究を続ける必要があると思われる。

結 語

1. インスリンを 1%グリコール酸ナトリウムに

溶き、pH 7.6 の溶液とし鼻粘膜に投与したところ、インスリンは速やかに吸収され血中 IRI の上昇とともに血糖の下降が起こり、内因性インスリンの分泌が抑制された。

またインスリン投与量と血糖下降との間には dose-response の傾向が認められた。

2. 鼻粘膜からはよく吸収された上記インスリン溶液を口腔粘膜に投与した際にはインスリンの吸収は全く認められなかった。

3. 1%グリコール酸ナトリウムに溶いたインスリンの鼻粘膜投与による血中 IRI の上昇は比較的速やかにおこり、皮下注あるいは静注との比較においてむしろ静注法に似たパターンを示すようであった。

参 考 文 献

- 1) Winter, L. B. : On the absorption of insulin from the stomach. *J. Physiol.* 58 : 18~20, 1923.
- 2) Lasch and Brügel : Insulin plus sponin by mouth. *J. Ame. Med. Assoc.* 87 : 1078, 1926.
- 3) Laskowski, M. Jr., Haessler, H. A., Mietch, R. P., Peanasky, R. J. and Laskowski, M. : Effect of Trypsin inhibition on passage of insulin across the intestinal barrier. *Scie.* 127 : 1115~1116, 1958.
- 4) Danforth, E. Jr. and Moore, R. O. : Intestinal absorption of insulin in the rat. *Endo.* 65 : 118~123, 1959.
- 5) Shichiri, M., Shimizu, Y., Yoshida, Y., Kawamori, R., Fukuchi, M., Shigeta, Y. Abe, H. : Enteral absorption of water-in-Oil-in-Water insulin emulsions in rabbits. *Diabetologia.* 10 : 317~321, 1974.
- 6) Pater, H. M. : Oral administration of insulin by encapsulation within liposomes. *Febs Letters.* 62 : 60~63, 1976.
- 7) Shigeta, Y., Shichiri, M., Okada, A. and Karasaki, K. : Plasma immunoreactive insulin after intestinal administration of β -Naphthyl-Azo-Polystyrene-Insulin to the rabbit. *Endo.* 91 : 320, 1972.
- 8) 七里元亮, 繁田幸男, 阿部裕 : インスリンの経口投与法に関する研究(16報)—吸収効率を高めた新しい製剤, ミセルインスリンによる糖尿病ラットのコントロール実験—(会) 糖尿病 19巻, 101頁 1976年.

- 7: 440~441, 1975.

Abstract

Nasal and Sublingual Administration of Insulin in Man

Tomoko YoKosuka*, Yasue Omori*, Yukimasa Hirata*, Shinichiro Hirai**

* Diabetes Center Tokyo Women's Medical Collage, Tokyo

** Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka

Changes in serum IRI, CPR and glucose were determined in 18 healthy adults after spraying of porcine crystallin insulin to nasal or sublingual mucous membrane. Ten, 30 or 50 U porcine crystallin insulin was dissolved in 0.1 ml 0.9% NaCl containing 1% sodium glycocholate pH 7.6. When it was applied to nasal mucous membrane, there were significant decreases in serum glucose and CPR levels. There was a positive correlation between the peak serum IRI levels and doses of insulin applied. However, when it was applied to the sublingual mucous membrane, there were no measurable increases in serum IRI levels.

When sodium glycocholate was omitted, no measurable increase in serum IRI levels was observed. Substitution of sodium glycocholate with other surface activating agents such as lysozyme chloride, HCO-60, Byco-E, did not facilitate the absorption of insulin at all. Ursodeoxycholate was effective in facilitating absorption of insulin from nasal mucous membrane, but this agent was associated with marked local irritation.

The results showed that significant amount of insulin was absorbed from nasal mucous membrane when it was dissolved in a solution containing sodium glycocholate. This route of administration of insulin may be useful under certain clinical circumstances.

血糖調節能とインスリン分泌の 動特性に関する研究 — 静脈内ブドウ糖負荷試験の制御理論的解析 —

河盛 隆造

要約：OGTT における正常型、境界型、糖尿病型を呈するそれぞれ99名、56名、82名、計237名にIVGTTを施行し、その血糖曲線、末梢血インスリン曲線を制御理論に基づいて解析し、個体の血糖調節能の定量的把握を試み、次のような結果を得た。

1) IVGTT 時の血糖曲線は、従来片対数グラフ上で直線である。すなわちブドウ糖利用恒数 (k 値) は一定である、と考えられてきたが、血糖調節能の正常者においては、片対数グラフ上で、上に凸の曲線を示す。これは血糖調節の negative feedback の定数が時間的に大きくなると考えることにより説明できる。

2) この negative feedback の定数の時間的变化は、血糖調節能が低下するほど小さくなる。

3) インスリン分泌の動特性を Weighting Function として求めたところ、血糖調節能の軽度低下したもののにおいて、すでに単位血糖上昇率に対するインスリン分泌のゲインが小さくなり、かつ時定数が著明に大きくなることを認めた。さらに negative feedback の定数の時間的变化が、血糖上昇率に応じて追加分泌されたインスリンの作用によることを示唆した。

以上 IVGTT を制御理論を応用した新しい方法により解析し、血糖調節能とインスリン分泌の動特性との関連性を定量的に把握することができた。かかる方法は、糖尿病の早期診断や発症にいたる経過の研究に有効な方法と考えられた。

〔糖尿病 20(2) : 153~161, 1977〕

はじめに

血糖調節系は、典型的な feedback 制御系であり、血糖値が上昇するとインスリンが分泌され、肝臓、筋肉、脂肪組織でブドウ糖の摂取が増加し、これが negative feedback されて血糖値の調節が行われている。したがって、この状態を正しく把握することが血糖調節能を診断することになる。血糖調節能に影響をおよぼす最大の因子がインスリン分泌の動特性であることはいうまでもない。

今日、血糖調節能やインスリン分泌能の判定に経口ブドウ糖負荷試験（以下 OGTT と略す）が広く用いられているが、この方法が普及している理由は、1) 簡便であること、2) 経口負荷のため生理的であること、3) 多数の症例が集積されており判定基準設定など容易なこと、などであるが、最大の難点は、1) 消化管での吸収が要素として加わること、2) インスリン分泌に関与する消化管ホルモンの影響を無視しえないこと、3) 血糖調節系に与えられる負荷の形や量が一定でないことである。これに対して静脈内ブドウ糖負荷試験（以下 IVGTT と略す）は、1) 操作が煩雑であること、2) 非生理的であることなど、欠点はあるがブドウ糖負荷の形や量を一定にしえる点で血糖調節能を定量的に解析するためには、OGTT より適切である。

IVGTT によって得られたデータから血糖調節能を判定する方法として Hamilton¹⁾ や Amatuzio²⁾ によって提唱されたモデルが用いられているが、その妥当性について本格的に検討した報告は少ない。そこで著者は237名の症例に、IVGTT を実施し、その血糖曲線と末梢血インスリン曲線を制御理論に基づいて解析し、個体の血糖調節能を定量的に把握せんとした。

IVGTT によって得られたデータから血糖調節能を判定する方法として Hamilton¹⁾ や Amatuzio²⁾ によって提唱されたモデルが用いられているが、その妥当性について本格的に検討した報告は少ない。そこで著者は237名の症例に、IVGTT を実施し、その血糖曲線と末梢血インスリン曲線を制御理論に基づいて解析し、個体の血糖調節能を定量的に把握せんとした。

大阪大学第一内科 (〒553 大阪市福島区福島 1-1-50)

なお本論文の要旨の一部は第49回日本内分泌学会総会および第24回日本内分泌学会西部部会総会にて発表した。

受付日：昭和51年10月8日